

· 临床研究 ·

早产儿 ACE 水平和其基因多态性与危重病评分的关系

韩彤妍,李在玲,叶鸿瑁,王新利,崔蕴璞,朴梅花,童笑梅,李松

(北京大学第三医院儿科,北京 100083)

〔摘 要〕 目的 探讨血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme,ACE)基因插入/缺失(I/D)多态性与 ACE 水平、危重病评分的关系。方法 确定新生儿重症监护病房(Neonatal Intensive Care Unit,NICU)早产儿 ACE 基因型,生后第1天、3天、7天分别检测 ACE 水平并进行危重病例评分。结果 85例早产儿中,DD 基因型19例,ID 基因型34例,II 基因型32例,临床特征差异无显著性。第1天 DD 基因型和 ID 基因型 ACE 水平分别为 33.42 ± 7.93 U/L 和 31.53 ± 7.56 U/L,显著高于 II 基因型的 25.53 ± 7.56 U/L($P < 0.01$);第3天和第7天,三者 ACE 水平逐渐下降,但仍是 DD 高于 ID,两者显著高于 II。比较危重病评分,生后第1天 DD 基因型为 87.37 ± 8.30 ,低于 ID 基因型的 95.82 ± 5.85 和 II 基因型 95.88 ± 6.85 ,差异有显著性,ID 和 II 间差异无显著性;第3天,DD 基因型显著低于 ID 基因型(92.95 ± 7.10 vs 96.94 ± 5.85 , $P < 0.05$),与 II 无差异,ID 和 II 间也无差异;第7天,三者间无差异。结论 ACE 基因插入/缺失多态性与新生儿危重症有相关性,DD 基因型携带者的病情相对重,血清 ACE 水平相对高,虽然疾病会对血清 ACE 水平有所影响,但决定 ACE 水平的根本因素是个体间基因型的差异。

〔中国当代儿科杂志,2008,10(6):693-696〕

〔关 键 词〕 ACE 基因多态性;血清 ACE 水平;危重病评分;早产儿
〔中图分类号〕 R722 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1008-8830(2008)06-0693-04

Relationship of the disease severity with ACE gene polymorphism and serum ACE activity in preterm infants

HAN Tong-Yan, LI Zai-Ling, YE Hong-Mao, WANG Xin-Li, CUI Yun-Pu, PIAO Mei-Hua, TONG Xiao-Mei, Li Song.
Department of Pediatrics, Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China (Email:amyhan66@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To investigate the relationship of disease severity with angiotensin converting enzyme (ACE) gene insertion/deletion (I/D) polymorphism and serum ACE activity in preterm infants during the first 7 days of life. **Methods** ACE genotypes were determined in 85 preterm infants admitted to the neonatal intensive care unit (NICU). Serum ACE activity was measured and disease severity was evaluated by the Neonatal Critical Score (draft) 1, 3 and 7 days after birth. **Results** Of the 85 preterm infants, DD genotype was found in 19 cases, ID genotype in 34 cases and II genotype in 32 cases. On the 1st day of life, serum ACE activity in the DD genotype (33.42 ± 7.93 U/L) and the ID genotype groups (31.53 ± 7.56 U/L) were significantly higher than that in the II genotype group (25.53 ± 7.56 U/L) ($P < 0.01$). After 3 and 7 days of life, serum ACE activity decreased in the three groups, but the DD genotype group remained the highest ACE activity, followed by the ID genotype and the II genotype groups. On the 1st day of life, the critical score of the DD genotype group (87.37 ± 8.30) was lower than the ID genotype (95.82 ± 5.85) and the II genotype groups (95.88 ± 6.85) ($P < 0.01$). On the 3rd day, the critical score of the DD genotype group was still lower than the ID genotype group (92.95 ± 7.10 vs 96.94 ± 5.85) ($P < 0.05$). **Conclusions** ACE gene I/D polymorphism may be associated with the disease severity in preterm infants. The DD genotype carriers present more severe disease status, with higher serum ACE activity. Although the disease status can influence serum ACE activity, serum ACE activity is determined by the ACE genotype.

〔Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10 (6):693-696〕

Key words: ACE gene polymorphism; Serum ACE activity; Critical score; Preterm infant

血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme,ACE)基因位于17号染色体长臂2区3带(17q23),其16内含子长度为287 bp的Alu序列的插入(insertion,I)或缺失(deletion,D)使ACE基因呈现插入/缺失(I/D)的限制性片断长度多态现象,即存在I和D两种等位基因以及三种基因型:DD、

〔收稿日期〕2008-01-23;〔修回日期〕2008-03-17
〔作者简介〕韩彤妍,女,博士,主治医师。主攻方向:新生儿学。

ID 和 II^[1]。ACE 基因调控 ACE 的血浆浓度和活性。ACE 是肾素-血管紧张素系统(renin angiotensin system,RAS)的关键酶,在机体的血压、水电解质稳态方面的调节起着重要的作用,是 RAS 以及激肽-缓激肽系统的重要调节因素,影响人体多种生理机能。研究发现早产儿血清 ACE 水平较高,由于肺组织是产生 ACE 的主要来源,孕后期和生后早期肺组织的快速成熟使新生儿血清 ACE 水平高于成人^[2]。

本研究针对新生儿重症监护病房(neonatal intensive care unit,NICU)的早产儿 ACE 基因 I/D 多态性、生后 7 d 内血清 ACE 水平和危重病评分进行研究,分析由于 ACE 基因型、血清 ACE 水平及病情变化之间的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

在 2005 年 2~5 月间,按入院时间顺序,可顺利获得血样标本,并在生后 24 h 内进入我院 NICU 的早产儿,进入研究。共入选 85 例早产儿,男:女为 55:30,平均孕周(33.07±1.91)周,平均体重(1 970.65±432.99)g。

1.2 方法

1.2.1 新生儿危重病例评分 入院 24 h 内,检查心率、收缩压、呼吸、动脉血 pH 值、动脉血氧分压、血钾、血钠、血尿素氮、红细胞压积、胃肠道表现(有无腹胀或消化道出血)等,并按文献[3]进行新生儿危重病例评分,在住院第 3 天、第 7 天按上述检查项目再次进行危重病例评分。

1.2.2 实验方法

(1)ACE 基因分型:取足跟血 300 μL(肝素抗凝),按试剂盒说明书提取 DNA,参照 Rigat 等^[4]方法进行 PCR 扩增,由于 D 等位基因常优先扩增,按 Lindpainter 等^[5]方法进行确证。约 5% 的 ID 基因型被误分为 DD 基因型。

(2)血清 ACE 水平:马尿酰-甘氨酸甘氨酸为底物用紫外分光光度计法在 228 nm 下测定血清 ACE 活性,血清 ACE 测定试剂盒购自中国人民解放军海军总医院。

1.3 统计分析

应用 SPSS for Windows 10.0 统计软件。计数资料用 χ^2 检验;计量资料用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,三组间比较用方差分析(one way ANOVA),并用 LSD Post-Hoc 检验进行两两比较。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 ACE 基因 I/D 多态性

85 例早产儿中,DD 基因型 19 例(22.4%),ID 基因型 34 例(40.0%),II 基因型 32 例(37.7%);D 等位基因频率 42.35%,I 等位基因频率 57.65%;经确认符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律($\chi^2 = 1.579$, $P = 0.454$)。

2.2 ACE 基因型间临床资料比较

ACE 三种基因型携带者在性别分布、母亲孕期合并症等方面差异无显著性(图 1)。

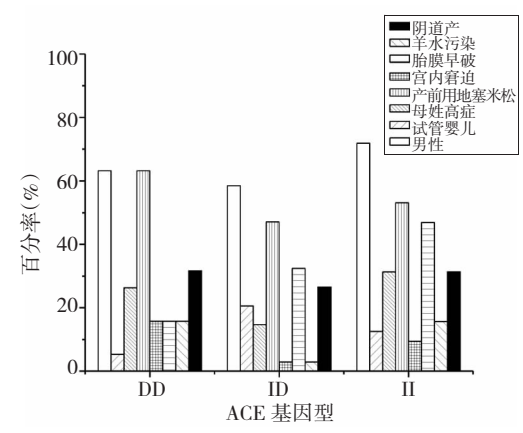


图 1 ACE 基因型间性别、母孕期情况比较 (%)

2.3 生后第 7 天 ACE 基因型间血清 ACE 水平和危重病评分的变化

生后第 1 天 DD 基因型的血清 ACE 水平显著高于 II 基因型,ID 基因型血清 ACE 水平显著高于 II 基因型;在生后第 3 天和第 7 天,三种基因型血清 ACE 水平都逐渐下降,但仍是 DD 基因型者高于 ID 基因型,两者显著高于 II 基因型。生后第 1 天 DD 基因型的危重病评分显著低于 ID 基因型和 II 基因型,而 ID 和 II 基因型间无差异;在生后第 3 天,DD 基因型的危重病评分低于 ID 基因型,而与 II 基因型无差异,ID 和 II 基因型间也无差异;生后第 7 天,三种基因型间危重病评分无差异(表 1)。

3 讨论

本研究群体的基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,研究样本具有群体代表性;其中 DD、ID 和 II 基因型频率分别是 22.4%、40.0% 和 37.7%,D 等位基因频率 42.35%,I 等位基因频率

表 1 生后 7 d ACE 基因型间血清 ACE 水平和危重病评分的变化比较 (x±s)

例数		ACE 水平 (U/L)			危重病评分		
		第 1 天	第 3 天	第 7 天	第 1 天	第 3 天	第 7 天
DD	19	33.42 ± 7.93 ^a	32.42 ± 6.92 ^a	29.47 ± 6.36 ^a	87.37 ± 8.30 ^{a,c}	92.95 ± 7.10 ^{a,c}	96.84 ± 5.59
ID	34	31.53 ± 7.56 ^b	29.15 ± 7.57 ^b	27.41 ± 8.18 ^b	95.82 ± 5.85	96.94 ± 5.85	98.00 ± 5.85
II	32	25.97 ± 8.32	23.41 ± 7.49	18.69 ± 4.49	95.88 ± 6.85	96.44 ± 6.87	98.19 ± 4.23
组间比较	<i>F</i>	6.507	9.898	21.166	11.367	2.480	0.431
	<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	>0.05

注:统计学分析用方差分析(ANOVA)。两两比较结果:a:DD vs II 均 $P<0.01$; b:ID vs II 均 $P<0.01$; c:DD vs ID $P<0.05$

57.65%,与国内报道的 ACE 基因型频率接近^[6],而且与亚洲人群的 ACE 基因型频率接近^[7]。

研究发现进入 NICU 的 DD 基因型早产儿生后第 1 天病情相对重,与 Harding 等^[8]研究结果一致。对 148 例 29~32 孕周早产儿 ACE 基因 I/D 多态性与生后早期心肺血管适应性的研究,发现 DD 基因型的患儿需要较高的吸入气氧浓度(最高吸入气氧浓度 DD 为 39%、ID+II 为 0.21%, $P<0.05$;最低吸入气氧浓度 DD 为 27%、ID+II 为 21%, $P<0.05$);DD 基因型患儿碱剩余的负值明显增加(DD 为 -5.0, ID+II 为 0, $P<0.05$);为了维持血压在正常范围,更多的 DD 基因型患儿需要血管活性药物($P<0.05$)^[9]。而且,在儿童重症监护病房的研究也发现,更多的 DD 基因型需要强心药物和呼吸机辅助治疗,重症监护时间更长^[9],这是由于 DD 基因型炎症反应程度相对重^[10]。以往研究表明重症疾病时机体的应激反应受到 ACE 基因型的影响。在生理应激时,有较低血清 ACE 水平的 II 基因型表现出代谢效力提高加快^[11],而细胞炎症反应程度相对较低^[12];在运动状态下,DD 基因型表现出相对差骨骼肌代谢反应^[11]。因此,DD 基因型对应激反应相对差的抵抗力和相对重的炎症反应,使得在生后早期适应环境的急性应激过程中,出现重症疾病的可能性更大而且疾病程度更重。

本研究中用紫外分光光度法测定生后第 1 天、第 3 天、第 7 天血清 ACE 水平,DD、ID 和 II 三种基因型血清 ACE 水平分别为 DD>ID>II,虽然没有得到 Rigat 等^[4]证实的 DD 基因型血清 ACE 水平接近 II 基因型两倍的结论,但是 DD 基因型血清 ACE 水平的确显著高于 II 基因型血清 ACE 水平。动态监测血清 ACE 水平和危重病评分的变化,随着病情的逐渐好转,血清 ACE 水平在逐渐降低;ACE 三种基因型间危重病评分在生后第 7 天差异无显著性,但是血清 ACE 水平仍然有基因型间差异的显著性,提示虽然病情会影响血清 ACE 水平,但是决定血清 ACE 水平的根本因素是 ACE 基因型,这与以往研究

提出的血清 ACE 在个体中的水平稳定而个体间差异显著的观点一致^[13]。具有相对高水平血清 ACE 的 DD 基因型早产儿病情相对重,这一现象提示 ACE 基因插入/缺失多态性不仅与血清 ACE 水平相关,而且与疾病程度相关。ACE 基因型与疾病程度相关的机制在于受基因调控^[4]的局部 RAS 系统在调节组织炎症反应方面起重要作用,而炎症反应程度与疾病病情轻重和结局有关^[14,15]。ACE 水平与炎症反应之间呈正反馈关系:炎症反应刺激临近细胞的 ACE 表达增加,同时刺激单核细胞趋化因子和粘附因子的局部表达,使更多的炎症细胞聚集而释放更多的 ACE^[16]。不仅 ACE 以自分泌或旁分泌的形式介导了单核细胞/巨噬细胞的炎症反应^[17],而且单核细胞/巨噬细胞活化和成熟与细胞 ACE 表达的迅速增加有关^[18],在组织炎症反应和创伤反应上起重要作用,并因此直接对局部微血管衰竭和细胞损伤起作用^[12,17]。

综上所述,本研究针对新生儿重症监护病房早产儿研究 ACE 基因插入/缺失多态性与血清 ACE 水平在生后早期的动态变化,并与新生儿危重病例评分联系起来。我们发现 DD 基因型的早产儿生后第 1 天血清 ACE 水平较高、病情较重,随着病情好转,生后第 3 天、第 7 天血清 ACE 水平渐降低,但是仍以 DD 基因型为最高,II 基因型为最低。尽管本研究中样本量还不足以研究 ACE 基因型与各种新生儿疾病发生、发展的关系,这些数据对于我们理解重症疾病的病理生理有着重要的启示:ACE 基因插入/缺失多态性与新生儿危重症有相关性,重症疾病时,DD 基因型携带者的病情相对重,血清 ACE 水平相对高,虽然疾病会对血清 ACE 水平有所影响,但是决定 ACE 水平的根本因素是个体间基因型的差异。

[参 考 文 献]

[1] Tired L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvd P, Cambien F, et al. Evidence, from combined segregation and linkage analysis that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene con-

- trols plasma ACE levels[J]. *Am J Hum Genet*, 1992, 51(1): 197-205.
- [2] Walther T, Faber R, Maul B, Schultheiss HP, Siems WE, Stepan H. Fetal, neonatal cord, and maternal plasma concentrations of angiotensin-converting enzyme (ACE) [J]. *Prenat Diagn*, 2002, 22(2):111-113.
- [3] 中华医学会急诊分会儿科学组. 中华医学会儿科学分会急诊学组、新生儿学组. 新生儿危重病例评分法(草案) [J]. *中华儿科杂志*, 2001, 39(7): 42-43.
- [4] Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum [J]. *J Clin Invest*, 1990, 86(4): 1343-1346.
- [5] Lindpainter K, Ganten D. The cardiac renin-angiotensin system; an appraisal of present experimental and clinical evidence [J]. *Circ Res*, 1991, 68(4):905-921.
- [6] 刘东海,王秀英,许毅. 血管紧张素转换酶基因多态性与川崎病的相关性[J]. *实用儿科临床杂志*, 2005, 20(1):48-50.
- [7] Yoshida H, Mitarai T, Kawamura T, Kitajima T, Miyazaki Y, Nagasawa R, et al. Role of the deletion of polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in the progression and therapeutic responsiveness of IgA nephropathy[J]. *J Clin Invest*, 1995, 96(5):2162-2169.
- [8] Harding D, Dhamrait S, Marlow N, Whitelaw A, Gupta S, Humphries S, et al. Angiotensin converting enzyme DD genotype is associated with worse perinatal cardiorespiratory adaptation in pre-term infants[J]. *J Pediatr*, 2003, 143(6):746-749.
- [9] Harding D, Baines PB, Brull D, Vassiliou V, Ellis I, Hart A, et al. Severity of meningococcal disease in children and the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165(8):1103-1106.
- [10] Marshall RP, Webb S, Bellingan GJ, Montgomery HE, Chaudhari B, McAnulty RJ, et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with susceptibility and outcome in acute respiratory distress syndrome[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 166(5): 646-650.
- [11] Williams AG, Rayson MP, Jubbs M, World M, Woods DR, Hayward M, et al. The ACE gene and muscle performance[J]. *Nature*, 2000, 403(6770):614.
- [12] Guba M, Steinbauer M, Büchner M, Frölich D, Farkas S, Jauch KW, et al. Differential effects of short-term ACE-and AT1-receptor inhibition on postischaemic injury and leukocyte adherence in vivo and in vitro[J]. *Shock*, 2000, 13(3):190-196.
- [13] Cambien F, Alhenc-Gelas F, Herbeth B, Andre JL, Rakotovao R, Gonzales MF, et al. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level; the Nancy Study [J]. *Am J Hum Genet*, 1988, 43(5):774-780.
- [14] Marshall JC. Inflammation, coagulopathy, and the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome[J]. *Crit Care Med*, 2001, 29(7):S99-S106.
- [15] Kennedy BC, Hall GM. Neuroendocrine and inflammatory aspects of surgery: do they affect outcome? [J] *Acta Anaesthesiol Belg*, 1999, 50(4): 205-209.
- [16] Saijonmaa O, Nyman T, Kosonen R, Fyhrquist F. Induction of angiotensin-converting enzyme by oncostatinmin human endothelial cells[J]. *Cytokine*, 2000, 12(8):1253-1256.
- [17] Constantinescu CS, Goodman DB, Hilliard B, Wysocka M, Cohen JA. Murine macrophages stimulated with central and peripheral nervous system myelin or purified myelin proteins release inflammatory products[J]. *Neurosci Lett*, 2000, 287(3):171-174.
- [18] Lazarus DS, Aschoff J, Fanburg BL, Lanzillo JJ. Angiotensin converting enzyme (kininase II) mRNA production and enzymatic activity in human peripheral blood monocytes are induced by GM-CSF but not by other cytokines[J]. *Biochem Biophys Acta*, 1994, 1226(1):12-18.

(本文编辑:吉耕中)